



TITLE:

FRETバイオセンサーを用いた生体
イメージングによる代謝状態の可
視化と代謝調節機構の解明(
Abstract_要旨)

AUTHOR(S):

小長谷, 有美

CITATION:

小長谷, 有美. FRETバイオセンサーを用いた生体イメージングによる代謝状態の可視化と代謝調節機構の解明. 京都大学, 2019, 博士(生命科学)

ISSUE DATE:

2019-03-25

URL:

<https://doi.org/10.14989/doctor.k21927>

RIGHT:

(続紙 1)

京都大学	博士 (生命科学)	氏名	小長谷 有美
論文題目	FRETバイオセンサーを用いた生体イメージングによる代謝状態の可視化と代謝調節機構の解明		
(論文内容の要旨)			
<p>AMPKは代謝を制御する重要な酵素である。AMPKは栄養飢餓状態において活性化され、エネルギー消費を抑制するとともにエネルギー産生を亢進する。AMPKが関与する疾患として、2型糖尿病や肥満など代謝異常に加え、近年ではガンや老化も注目されている。生化学的な解析によりAMPKの活性制御や機能が明らかになっているが、生体内のAMPKがいつ、どの組織・細胞において制御されているかは不明な点が多く残されている。この情報により、個体内における生理・病態とAMPKの因果関係が明らかになると考えられる。</p> <p>本研究では生体内AMPK活性を可視化し、組織間や細胞間でAMPK活性がどう異なるかを明らかにすることを目的とした。生体内AMPK活性可視化のためには、まず既存のAMPKのFRETバイオセンサーを改良する必要があると考え、EVリンカーを用いてバイオセンサーのダイナミックレンジを約3倍向上させた。</p> <p>次に、改良したAMPKのFRETバイオセンサーを発現する遺伝子改変マウスを作製し、二光子顕微鏡を用いた生体イメージングにより、AMPKの薬剤応答性を検討した。用いた薬剤は糖尿病治療薬メトホルミンとドーピング剤として認定されているAMP疑似体の一つAICARである。両者は培養細胞に対して同様のAMPKの活性化を誘導するが、ヒトにおける薬物効果は異なる。申請者は、この薬物効果の違いが、それぞれの薬剤における組織・細胞指向性にあると考え、AMPKの表現型に重要な臓器である肝臓と筋肉において薬剤効果を調べた。その結果、メトホルミンは肝臓の、AICARは骨格筋のAMPKをそれぞれ選択的に活性化することを見出した。この知見は、薬効の差異を、生体内における臓器指向性の観点から説明できる可能性を示している。またトレッドミルを用いたランニング運動による骨格筋での影響を調べたところ、遅筋に比べ速筋で有意にAMPKが活性化されることを明らかにした。</p> <p>以上のように本研究では糖尿病治療薬や運動の効果がどの組織のどの細胞を標的としているかを明らかにした。本研究で開発したAMPK活性を検出するマウスは、代謝疾患だけでなくガンや老化といった研究分野でも画期的なツールになると期待される。</p>			

(論文審査の結果の要旨)

AMP 依存性酵素 (以下、AMPK) は飢餓状態において活性化されるタンパク質リン酸化酵素であり、糖尿病をはじめとする代謝性疾患のみならず、がんや神経疾患などさまざまな病態を制御する分子として知られている。これまでの多くの生化学的解析研究によりこの分子の活性がどのように制御されているかについては膨大な知見がある。一方、生体内での AMPK 活性の制御機構については適切なアッセイ系がなかったということもあり、不明の点が多く残されている。

本論文著者は、上記の問題を鑑み、まず、AMPK 活性を可視化するバイオセンサーの開発を行った。既存の AMPKAR というバイオセンサーに、所属する研究室で開発した EV リンカーをつけることで、バイオセンサーのダイナミックレンジを約 3 倍にした。

次に、生体組織内での AMPK 活性の動態を解析する目的で AMPK バイオセンサーを発現するトランスジェニックマウスを開発した。まず、II 型糖尿病治療薬であるメトホルミンの影響を観察したところ、肝臓での AMPK 活性の上昇は認められるものの、筋肉では活性の変化は認められなかった。一方、持久力を高めるドーピング剤としても用いられる AMP 疑似体の一つ AICAR を投与したところ、肝臓においては効果がなく、筋肉においてのみ AMPK 活性の上昇を認めた。これは、薬剤の組織特異的効果の原因を直接的に示す重要な知見である。

さらに、トレッドミルを用いたランニング運動による骨格筋での影響を調べ、遅筋に比べ速筋で有意に AMPK が活性化されることを明らかにした。AMPK 活性が遅筋と速筋のどちらで有意に上昇するかは諸説あった。過去の研究は、遅筋優位の筋肉と速筋優位の筋肉との比較を行ったものであり、間接的な評価であったといえる。本論文の成果は、直接に観察することで、この問題に決着をつけたと考えられる。

本論文は、論理的かつ一貫性をもって記述されており、AMP 依存性リン酸化酵素のバイオセンサーの開発および当該分子を用いた生体イメージングにより、本酵素の新たな生理学的意義の発見につながったものといえる。また、その内容は申請者の生命科学に関する高度で幅広い学識、専攻分野における優れた研究能力を十分に示すものである。以上より、本論文を博士 (生命科学) の学位論文として価値あるものと認めた。

なお、平成 31 年 1 月 31 日、論文内容とそれに関連した口頭試問を行った結果、合格と認めた。

論文内容の要旨及び審査の結果の要旨は、本学学術情報リポジトリに掲載し、公表とする。特許申請、雑誌掲載等の関係により、学位授与後即日公表することに支障がある場合は、以下に公表可能とする日付を記入すること。(ただし、学位規則第 8 条の規定により、猶予期間は学位授与日から 3 ヶ月以内を記入すること。)

要旨公開可能日： 年 月 日